

Naudan subkliininen hypokalsemia – kirjallisuuskatsaus

Lisensiaatin tutkielma

Essi Neste

Helsingin Yliopisto

Eläinlääketieteellinen tiedekunta

Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto

2018



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen osasto	
Tekijä - Författare - Author Essi Neste			
Työn nimi - Arbetets titel - Title Naudan subkliininen hypokalsemia - kirjallisuuskatsaus			
Oppiaine - Läroämne - Subject Tuotantoeläinten terveyden- ja sairaanhoito			
Työn laji - Arbetets art - Level Kirjallisuuskatsaus		Aika - Datum - Month and year 1/2018	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 36
Tiivistelmä - Referat – Abstract <p>Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena on koota yhteen uusin tieto naudan subkliinisestä hypokalsemiasta, sen etiologiasta ja merkityksestä lehmän terveyteen.</p> <p>Hypokalsemia on kalsiumin aineenvaihdunnan häiriötila, jossa elimistön homeostaattiset mekanismit eivät pysty pitämään yllä veressä normaalia kalsiumpitoisuutta. Lypsylehmillä hypokalsemia johtuu tavallisesti siitä, että poikimisen jälkeen maidontuotannon käynnistyessä kalsiumia menetetään enemmän maitoon, kuin mitä elimistö ehtii sitä korvaamaan. Hypokalsemia muun muassa heikentää hermojen ja lihasten toimintaa, koska kalsium on elintärkeässä osassa lihasten supistumisessa ja hermoimpulssien siirrossa, ja pahimmassa tapauksessa lehmä ei enää kykene nousemaan ylös.</p> <p>Subkliinisessä hypokalsemiassa veren kalsiumpitoisuus laskee alle normaalin mutta lehmällä ei havaita kliinisen hypokalsemian eli poikimahalvauksen oireita. Vaikka kliinisiä oireita ei ole, subkliinisellä hypokalsemialla on havaittu olevan useita haitallisia vaikutuksia naudan elimistössä. Sen on todettu muun muassa alentavan vastustuskykyä ja heikentävän ruuansulatuskanavan toimintaa. Lisäksi se voi muuttaa rasva- ja glukoosiaineenvaihduntaa niin, että naudan energiatasapaino kääntyy negatiiviseksi. Näiden tekijöiden kautta subkliininen hypokalsemia voi altistaa lehmän sairauksille kuten kohtutulehdukselle, utaretulehdukselle, juoksumahan siirtymille ja ketoosille. Se voi myös vaikuttaa negatiivisesti hedelmällisyyteen ja maitotuotokseen. Tämän takia subkliininen hypokalsemia voi aiheuttaa karjassa taloudellisia menetyksiä ja ylimääraistä työtä.</p> <p>Subkliinisesti hypokalseemisten lehmien tunnistaminen ilman veren kalsiumpitoisuuden määrittystä on käytännössä mahdotonta, koska kliinisiä oireita ei ole. Tällöin ainoa mahdollisuus hoitaa subkliinistä hypokalsemiaa on yrittää ehkäistä sitä. Koska subkliinisen ja kliinisen hypokalsemian ehkäisykeinot ovat samoja, karjatasolla kannattaa ensisijaisesti panostaa kliinisten hypokalsemioiden vähentämiseen. Tällöin samalla saadaan myös subkliinisten tapausten osuutta pienennettyä.</p> <p>Subkliinisen hypokalsemian merkitys lehmän terveydelle jää vielä avoimeksi. Aihetta käsittelevien tutkimusten tulokset ovat osittain ristiriidassa toisiinsa nähden. Suurimmaksi ongelmaksi muodostuu se, että eri tutkimuksissa on käytetty erilaisia raja-arvoja, joiden perusteella lehmä määritellään subkliinisesti hypokalseemiseksi. Tämän takia on mahdollista, että jotkin syy-seuraussuhteet voivat jäädä huomaamatta. Tarvittaisiin enemmän laajempaa tutkimustietoa, jotta voitaisiin saada luotettava kuva siitä, millainen vaikutus subkliinisellä hypokalsemialla on nykyaikaiseen karjatalouteen.</p>			
Avainsanat - Nyckelord - Keywords nauta, kalsium, hypokalsemia, subkliininen hypokalsemia			
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto			
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Timo Soveri, Helena Rautala			

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	1
2 NAUDAN KALSIUMAINEEENVAIHDUNTA	2
2.1 Kalsium elimistössä	2
2.2 Kalsiumaineenvaihdunnan säätelyyn osallistuvat tekijät	3
2.2.1 Parathormoni.....	4
2.2.2 Kalsitrioli	6
2.2.3 Kalsitoniini	8
2.3 Kalsiumaineenvaihdunta lypsylehmällä tuotoskauden eri vaiheissa	9
3 SUBKLIININEN HYPOKALSEMIA.....	11
3.1 Hypokalsemiasta yleisesti	11
3.2 Hypokalsemialle altistavat tekijät	13
3.2.1 Metabolinen alkaloosi	13
3.2.2 Hypomagnesemia	14
3.2.3 Muita hypokalsemialle altistavia tekijöitä.....	15
4 HYPOKALSEMIAN VAIKUTUS NAUDAN ELIMISTÖSSÄ	16
4.1 Hypokalsemian vaikutus naudan vastustuskykyyn	16
4.2 Hypokalsemian vaikutus syöntiin, mahojen toimintaan sekä rasva- aineenvaihduntaan.....	18
5 SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN YHTEYS ERI SAIRAUKSIIN.....	20
5.1 Metriitti	20
5.2 Juoksutusmahan siirtymät	21
5.3 Mastiitti	22
5.4 Ketoosi.....	23
6 SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN YHTEYS MAIDONTUOTANNON TUNNUSLUKUIHIN.....	24

6.1	Maitotuotos	24
6.2	Hedelmällisyys.....	25
7	SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN EHKÄISEMINEN	26
8	POHDINTA	29
9	KIRJALLISUUSLUETTELO	32

1 JOHDANTO

Hypokalsemia on lypsylehmillä tavallisesti esiintyvä kalsiumin aineenvaihdunnan häiriötila, jossa elimistön homeostaattiset mekanismit eivät kykene ylläpitämään normaalia kalsiumpitoisuutta veressä (Goff ja Horst 1997). Hypokalsemiaa tavataan erityisesti vastapoikineilla lehmillä, joilla maidontuotannon käynnistyminen aiheuttaa äkillisesti lisääntyneen kalsiumin tarpeen utarekudoksessa, mikä kuluttaa veren kalsiumvarastoja nopeammin kuin elimistö pystyy niitä täydentämään (katsauksessa Horst ym. 2005). Liian alhainen veren kalsiumpitoisuus heikentää hermojen ja lihasten toimintaa, ja pahimmassa tapauksessa lehmä ei enää kykene nousemaan ylös (katsauksessa Goff 2008).

Kliininen hypokalsemia eli poikimahalvaus on hyvin tunnettu sairaus lypsylehmällä ja sitä on vuosikymmenten aikana tutkittu melko laajasti. Viime aikoina on tutkimuksissa entistä enemmän kiinnitetty huomiota hypokalsemioihin, jotka eivät täytä perinteisen poikimahalvauksen kriteerejä (Miltenburg ym. 2016). Subkliininen hypokalsemia on tällainen. Naudalla subkliininen hypokalsemia eroaa kliinisestä hypokalsemiasta siten, että ulkoisia oireista ei ole havaittavissa, vaikka veren kalsiumpitoisuus on normaalia alhaisempi (katsauksessa Goff 2008). Reinhardtin ym. (2011) mukaan subkliininen hypokalsemia on kliinistä muotoa huomattavasti yleisempää, koska sitä esiintyy vanhemmilla lehmillä noin 50 prosentilla. Myös hiehoilla 25 prosentilla voi olla subkliinistä hypokalsemia poikimisen jälkeen (Reinhardt ym. 2011). Subkliininen hypokalsemia etenee harvoin kliiniseen muotoon, mutta se voi vaikuttaa lehmän terveyteen monella tavalla (katsauksessa Goff 2014). Se heikentää muun muassa ruoansulatuskanavan toimintaa, jolloin se vaikuttaa lehmän syöntiin ja voi lisätä riskiä juoksutumahan siirtymiin. Lisäksi se huonontaa lehmän vastustuskykyä heikentämällä elimistön puolustussolujen toimintaa, jolloin kasvaa lehmän riski sairastua esimerkiksi mastiittiin eli utaretulehdukseen tai metriittiin eli kohtutulehdukseen (katsauksessa Goff 2014). Subkliininen hypokalsemia voi myös heikentää hedelmällisyyttä ja vaikuttaa maitotuotokseen (katsauksessa Goff 2014).

Tämän kirjallisuuskatsauksen tarkoituksena on käydä läpi subkliiniseen hypokalsemiaan liittyvä uusin kirjallisuus. Lisäksi käydään läpi, mitä tehtäviä kalsiumilla on naudan elimistössä, millä mekanismeilla elimistö sitä säätelee ja mitkä tekijät vaikuttavat kalsiumhomeostaasin ylläpitoon. Tarkoituksena on myös selvittää, mitä merkitystä subkliinisellä

hypokalsemiolla on nykypäivän korkeatuottoiselle lypsylehmälle ja kuinka se tulisi ottaa huomioon karjan terveydenhuoltoa suunniteltaessa.

2 NAUDAN KALSIUMAINEEENVAIHDUNTA

2.1 Kalsium elimistössä

Kalsium on elimistön tärkeimpiä mineraaleja (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Se on välttämätön monissa elimistön aineenvaihdunnan prosesseissa ja on mukana elintärkeänä osana muun muassa lihasten supistumisessa, hermoimpulssin siirrossa sekä osatekijänä hormonitoiminnan säätelyssä (katsauksessa Horst ym. 1994, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kalsium on myös mukana muodostamassa selkärankaisten eläinten luista tukirankaa (katsauksessa Horst ym. 1994) ja imettävillä eläimillä yhtenä maidon komponenttina (Goff 2015). Eläin saa tarvitsemansa kalsiumin ottamalla sitä luustosta sekä ravinnosta imeytämällä (katsauksessa Horst ym. 1994).

Naudalla noin 99 prosenttia ruhon kokonaiskalsiumista on sitoutuneena luustoon, mikä tekee siitä elimistön suurimman kalsiumvaraston (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Tämä tarkoittaa sitä, että 600 kg painavan naudon luustossa on noin 8,5 kg kalsiumia (Goff 2015). Loppuosa kalsiumista eli noin 1 % on liukoisessa muodossa solun ulkopuolella ekstrasellulaaritulassa ja solun sisällä (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Luussa kalsium on kahdessa eri muodossa (katsauksessa Horst ym. 2005). Suurin osa eli yli 99 prosenttia luussa olevasta kalsiumista on hydroksiapatiittikiteinä tiiviin luun matriksissa (katsauksessa Goff 2014) Loppuosa kalsiumista on vapaana luusoluja ympäröivään nesteeseen liuenneena (katsauksessa Horst ym. 2005). Monitumaiset luun pintasolut erottavat luunesteessä vapaana olevan kalsiumin elimistön muusta ekstrasellulaarinnesteestä (katsauksessa Horst ym. 2005). Vapaana olevan kalsiumin varasto on verrattain pieni sekä melko epästabiili ja kalsiumintarpeessa se hyödynnetään ensimmäisenä (katsauksessa Horst ym. 2005). Aikuisella naudalla luunesteessä vapaana olevan kalsiumin määrän on arvoitu olevan noin 6 – 10 g (katsauksessa Horst ym. 2005). Tiiviin luun kalsiumvarasto on paljon stabiilimpi ja sitä hyödynnetään, kun kalsiumintarve on

pidempikestoista (katsauksessa Horst ym. 2005). Ainoastaan luun osteoklasti-solut pysyvät mobilisoimaan tiiviin luun kalsiumia (katsauksessa Goff 2014).

Veren plasmassa kalsium on kolmessa muodossa. Se voi olla sitoutuneena veren proteiineihin, muodostamassa komplekseja orgaanisten tai epäorgaanisten happojen kanssa (esim. sitraatin ja fosfaatin) tai olla ionisoituneena eli vapaana kalsiumina. (Larsen ym. 2001). Keskimäärin noin 50 % plasman kalsiumista on ionisoituneena muodossa, 40 % on sitoutuneena veren proteiineihin (pääasiassa albumiiniin) ja loput 10 % on liukoisina komplekseina esim. bikarbonaattina ja sitraattina (Larsen ym. 2001, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Näistä ionisoitu kalsium on fysiologisesti aktiivinen muoto ja se osallistuu moniin eri aineenvaihdunnallisiin prosesseihin (Larsen ym. 2001, kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Sekä koko elimistön tasolla että solutasolla kalsiumin säätely on äärimmäisen tarkkaa (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Solun sisällä olevan kalsiumin konsentraatio on 1/10 000 ekstrasellulaarisen kalsiumin konsentraatiosta (Goff 2015). Solut ylläpitävät tätä hyvin matalaa ionisoituneen kalsiumin tasoa mm. säätelemällä kalsiumkanavien esiintymistä sekä muodostamalla komplekseja proteiinien kanssa (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Ekstrasellulaaritallassa kalsiumpitoisuus pyritään pitämään tasaisena, jotta solun sisällä pystytään ylläpitämään kalsiumia vaativat fysiologiset toiminnot optimaalisella tasolla (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Ekstrasellulaarinen kalsium on keskeisessä roolissa varmistamassa hermokudoksessa hermoimpulssin kulkua, luusto- ja sydänlihaksen supistumisen synnyssä ja veren hyytymisessä (Goff 2015).

2.2 Kalsiumaineenvaihdunnan säätelyyn osallistuvat tekijät

Kalsiumin pitoisuutta veressä sekä muualla ekstrasellulaaritallassa säädellään hormonien avulla. (kirjassa Sjaastad ym. 2003, katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Kalsiumaineenvaihduntaan osallistuvat pääasialliset hormonit ovat parathormoni, 1,25-dihydroksivitamiini D eli kalsitrioli sekä kalsitonini. (katsauksessa Horst ym. 1994, katsauksessa Goff 2000).

2.2.1 Parathormoni

Parathormoni (l. paratyroideahormoni l. lisäkilpirauhashormoni) on proteiinihormoni, joka koostuu 86 aminohaposta ja se on yksi kalsiumia säätelevistä hormoneista naudan elimistössä (katsauksessa Horst ym. 1994, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Muiden proteiinihormoneiden tapaan sillä on suhteellisen nopea puoliintumisaika (noin 10 min), minkä takia sillä on melko lyhyt vaikutusaika (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Lisäkilpirauhanen erittää parathormonia (katsauksessa Horst ym. 1994). Lisäkilpirauhanen koostuu yleensä neljästä pienestä 8 – 10 mm kokoisista epiteelikudosta sisältävistä rauhasista, jotka naudalla sijaitsevat heti kurkunpään takana henkitorven päällä (kirjassa Dyce ym. 2002). Lisäkilpirauhanen voi olla joko osittain tai kokonaan kilpirauhaseen tai muihin kurkunpään alueen rauhasiin painuneena (kirjassa Dyce ym. 2002).

Lisäkilpirauhanen erittää koko ajan tasaisesti pieniä määriä parathormonia silloinkin, kun ionisoidun kalsiumin pitoisuus ekstrasellulaarinsteessä on normaalitasolla (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Ekstrasellulaarinsteen kalsiumkonsentraatio säätelee jatkuvasti parathormonin vapautumista lisäkilpirauhasesta suoran negatiivisen palautejärjestelmän avulla (katsauksessa Horst ym. 1994, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Lisäkilpirauhasessa on ionisoituneen kalsiumin negatiivista muutosta aistivia reseptoreita (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Lisäkilpirauhanen reagoi jo hyvin pieneen kalsiumpitoisuuden laskuun veressä ja alkaa erittää parathormonia (Goff 2015). Pienissä ja lyhytkestoisissa veren kalsiumpitoisuuden häiriöissä normaalin kalsiumtason saavuttamisen jälkeen parathormonin erityis palautuu nopeasti takaisin perustasolle (katsauksessa Horst ym. 2005).

Parathormonin reseptorit sijaitsevat kohdekudosten pinnalla (katsauksessa Goff 2014). Parathormonireseptori on transmembraaninen proteiini, jossa yksi osa ulottuu kohdesolusta ulos ekstrasellulaarinsteeseen, mihin yksinomaan parathormoni sitoutuu (katsauksessa Goff 2014). Toinen osa reseptorista ulottuu solun sisään (katsauksessa Goff 2014). Parathormonireseptorit ovat G-proteiinikytkentäisiä reseptoreita (katsauksessa Goff 2014). Kun parathormoni sitoutuu reseptoriin, tapahtuu aktivaatio ja reseptori muuttaa konformaatiotaan (katsauksessa Goff 2014). Tämä saa aikaan myös konformaatiomuutoksen G-proteiinissa, mikä saa aikaan reaktioketjun, jonka seurauksena muodostuu syklistä adeno-

siinimonofosfaattia (cAMP). Syklinen AMP toimii toisiolähettinä, joka stimuloi kohdesolun proteiinikinaaseja sekä muita reittejä, jotka auttavat palauttamaan ekstrasellulaaritalan kalsiumtasot normaaleiksi (katsauksessa Goff 2014).

Parathormonin pääasialliset vaikutuskohteet kalsiumaineenvaihdunnassa ovat luustossa ja munuaisissa (katsauksessa Goff 2000, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Lisäksi se on osaltaan vaikuttamassa kalsiumin imeytymiseen suolistosta aktivoimalla kalsitriolin synteesiä (katsauksessa Horst ym. 1994).

Munuaisissa parathormoni aktivoi munuaistubulusten soluja lisäämään kalsiumin takaisinimeytymistä munuaissuodoksesta (katsauksessa Goff 2000, Goff 2015). Lehmällä virtsan mukana menetetään vähemmän kuin 1 – 2 g kalsiumia päivässä, joten parathormonin vaikutuksesta munuaisten kautta elimistöön takaisinimeytyvät kalsiumin määrät ovat kohtalaisen pieniä (katsauksessa Goff 2000, Goff 2015). Suurissa ja pitkäkestoisissa veren kalsiumpitoisuuden vajauksissa parathormonipitoisuudet pysyvät koholla, mikä saa aikaa munuaisissa 1-alfa-hydroksylaasiensyymien aktivoitumisen, mikä taas aktivoi kalsitriolin tuotantoa (katsauksessa Horst ym. 2005).

Toinen parathormonin vaikutuskohde on luustossa, jossa se säätelee kalsiumin vapautumista ja sitoutumista luukudoksessa (katsauksessa Goff 2000). Parathormonin stimulaation seurauksena ensimmäisenä luustosta ekstrasellulaaritalaan siirrettävä kalsium on vapaana luusoluväliaineessa olevaa kalsiumia (katsauksessa Horst ym. 2005). Tämä osa kalsiumista reagoi hyvin nopeasti parathormoniin, ja jo muutamassa minuutissa kalsiumia pumpataan ekstrasellulaarinesteeseen (katsauksessa Goff 2014). Toinen parathormonin lyhytkestoinen vaikutus on stimuloida osteoblasteja ja osteosyyttejä, jolloin kalsiumin vapautuminen luusta tehostuu (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kaikkien luiden pinoilla olevista osteoblasteista löytyy parathormonireseptoreita (katsauksessa Goff 2014). Parathormonin vaikutuksesta osteoblastit erittävät sytokiineja, jotka saavat aikaan sen, että jo olemassa olevat osteoklastit alkavat resorboida luun kollageenia vapauttaakseen kalsiumia sekä osteoklastien esiastesolut ryhtyvät erilaistumaan ja muodostuu uusia osteoklasteja (katsauksessa Goff 2014). Parathormonipitoisuuden täytyy olla koholla pitkäkestoisesti, jotta osteoklastien hajotustoiminta luussa stimuloituu ja kalsiumia vapautuu luusta tehokkaammin (katsauksessa Goff 2000, Goff 2015). Parathormoni saa siis aikaan

osteoklastien määrän lisääntymisen sekä lisää osteoklastisolujen luun resorptiota (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

2.2.2 Kalsitrioli

Toinen kalsiumia säätelevistä hormoneista on kalsitrioli, josta käytetään myös nimityksiä 1,25-dihydroksivitamiini D ja 1,25-dihydroksikolekalsiferoli (katsauksessa Horst ym. 1994, katsauksessa Goff 2000, katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Kalsitrioli on steroidihormoni, joka säätelee kalsiumin aineenvaihdunnan lisäksi solunjakautumista ja erilaistumista sekä immuunisolujen toimintaa (katsauksessa Horst ym. 1994).

Kalsitriolia valmistetaan munuaisissa D-vitamiinista (katsauksessa Goff 2000). Luonnossa D-vitamiinia esiintyy kahdessa kemiallisessa muodossa, D₃- ja D₂-vitamiinina (kirjassa kirjassa Sjaastad ym. 2003). Eläin syntetisoi D₃-vitamiinin elimistössään, kun taas D₂-vitamiinia löytyy kasveista (katsauksessa Horst ym. 1994). Kasveissa on myös D₃-vitamiinia, mutta sen pitoisuudet ovat hyvin pieniä, vain noin prosentin luokkaa (katsauksessa Horst ym. 1994). D₃-vitamiini on päiväeläjäillä tärkein muoto D-vitamiinista (katsauksessa Horst ym. 1994).

D₃-vitamiinin esiastetta 7-dehydrokolekalsiferolia tuotetaan ihon epiteelisoluissa, jossa se auringon uv-säteilyn vaikutuksesta muutetaan D₃-vitamiiniksi (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Ihossa muodostettu D₃-vitamiini kulkeutuu maksaan, jossa se muutetaan C₂₅-hydroksylaatioprosessilla 25-hydroksikolekalsiferoliksi eli kalsidioliksi. Kalsidioli on D-vitamiinin pääasiallinen varastomuoto verenkierrossa ja sen konsentraatio plasmassa lehmällä on normaalisti 20 – 50 ng/ml (katsauksessa Horst ym. 1994). C₂₅-hydroksylaation jälkeen kalsidioli päättyy munuasiin, jossa se muutetaan 1 α -hydroksylaatioprosessin avulla 1,25-dihydroksikolekalsiferoliksi eli kalsitrioliksi, joka on D-vitamiinin aktiivinen muoto (katsauksessa Horst ym. 1994). Parathormoni säätelee kalsitriolin aktivaatioprosessia säätelemällä 1 α -hydroksylaasientsyymin toimintaa (katsauksessa Horst ym. 1994). Täysikasvuisella ei-tiineellä ja ummessa olevalla lehmällä kalsitriolin pitoisuus veressä vaihtelee 5 – 20 pg/ml. Lopputiineyden aikana pitoisuudet voivat nousta tasolle 20 – 50 pg/ml. Poikimisen aikaan ja maidontuotannon käynnistyessä kalsitriolipitoisuudet vaihtelevat noin 100 pg/ml jopa yli 300 pg/ml (katsauksessa Horst ym. 1994). Lehmällä 300

pm/ml ylittäviä arvoja kalsitriolin pitoisuuksissa mitataan silloin, kun kyseessä ovat vakavat hypokalseemiset tilat (katsauksessa Horst ym. 1994).

Verenkierrossa kalsitrioli on pääasiassa sitoutuneena D-vitamiinia sitovassa proteiinissa ja tyypillisesti vain alle 5 % hormonista kiertää vapaana (katsauksessa Horst ym. 1994). Vapaa muoto kalsitriolista siirtyy rasvaliukoisuutensa ansiosta vapaasti solun sisään (katsauksessa Horst ym. 1994). Kohdekudosten soluissa on solunsisäisiä reseptoreita kalsitriolia varten (katsauksessa Horst ym. 1994). Tällaisia soluja on mm. suolistossa, munuaisissa, utareessa, immuunijärjestelmän soluissa, lihaksissa, endokriinisissa kudoksissa sekä luussa (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kalsitrioli sitoutuu solunsisäiseen reseptoriin ja tämä hormoni-reseptori -kompleksi muuttaa erityisten lähetti-RNA -molekyylien tuotantoa solussa (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Tämä saa aikaan sen, että kalsiumia sitovien proteiinien tuotanto lisääntyy (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Kalsitriolilla on suora vaikutus kalsiumin imeytymiseen ruoansulatuskanavasta (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Se tehostaa kalsiumin absorptiota suolistosta verenkiertoon stimuloimalla suolen epiteelisoluja tekemään kalsiumia sitovia proteiineja ja kalsiumpumppuja solukalvolle (Goff 2015). Suolistosta kalsiumin imeytyminen on pääasiassa transsellulaarinen eli solun läpi tapahtuva aktiivinen kuljetusprosessi, joka on kolmivaiheinen (katsauksessa Horst ym. 2005). Ensin kalsium kulkeutuu suolen lumenista epiteelisolun sisään kalsiumkanavien läpi. Sen jälkeen kalsium siirretään epiteelisolun lumenin puoleiselta pinnalla basaalipinnalle siten, että solulimassa kalsium on sitoutuneena kalsiumia sitovaan proteiiniin. Lopuksi kalsium siirretään epiteelisolusta ulos verenkiertoon kalsium-ATP-aasin avulla. Kalsitrioli on mukana säätelemässä tätä prosessia sen kaikissa vaiheissa (katsauksessa Horst ym. 2005). Lehmällä kalsiumin imeytymistä ruoansulatuskanavasta tapahtuu suoliston lisäksi oletettavasti myös jonkin verran pötsistä, mutta tästä ei ole vielä selkeitä todisteita (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014).

Kalsitrioli on mukana säätelemässä kalsiumin resorptiota luusta yhdessä parathormonin kanssa (katsauksessa Horst ym. 1994). Kalsitrioli yksinään saa aikaan luustossa laaja-alaisen kalsiumin mobilisaation silloin, kun parathormonin signaali on pitkäkestoista ja

jatkuvaa (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Kalsitriolia tarvitaan myös osteoblastien ja osteoklastien normaalissa toiminnan ylläpitämisessä (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

2.2.3 Kalsitoniini

Kalsitoniini on 32 aminohaposta muodostuva peptidihormoni ja sitä muodostetaan kilpirauhasessa (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kalsitoniinia muodostavia soluja kutsutaan parafollikulaarisoluiksi eli C-soluiksi ja näissä soluissa on lukuisia rakkuloita, joiden keskellä olevassa nesteessä kalsitoniini on varastoituneena. (kirjassa Sjaastad ym. 2003). C-solut itsessään ovat ryppäinä sidekudoksessa kilpirauhashormonia muodostavien follikkeleiden välissä (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Veren ionisoituneen kalsiumin pitoisuus säätelee kalsitoniinin eritystä. Kun ionisoituneen kalsiumin pitoisuus veressä on alle 0,9 mmol/l (kokonaiskalsiumpitoisuus noin 2,25 mmol/l), kalsitoniinia ei erity (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kalsiumin pitoisuuden kohoaminen aktivoi kalsitoniinin erityksen (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kalsitoniinin erityks alkaa lisääntyä tasaisesti jo silloin, kun kalsiumpitoisuudet veressä ovat nousussa mutta vielä viiterajojen sisällä. Tällä tavoin kalsitoniini ehkäisee hyperkalsemian syntyä (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

Kalsitoniinin vaikutus on päinvastainen kuin parathormonilla. Sen tarkoituksena on alen-taa kalsiumpitoisuutta ekstrasellulaarinesteessä inhiboimalla kalsiumin luuesorptiota, sekä lisäämällä kalsiumin eritystä virtsaan (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Jos veren kalsiumpitoisuus kohoaa yli normaalin tason, parathormonin erityks lakkaa ja kalsitoniinin erityks alkaa (Goff 2015). Kalsitoniini lisää kalsiumin erittymistä virtsaan ja laskee osteoklastiaktiivisuutta, minkä seurauksena enemmän kalsiumia varastoituu luustoon (Goff 2015). Osteoklasteissa kalsitoniini sitoutuu G-proteiinikytkentäiseen solukalvoreseptoriin, mikä saa aikaan sen, että osteoklasti-solu kutistuu ja lopulta irtoaa luun pinnalta (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Kun osteoklastiaktiivisuus vähenee, luun muokkautumisaktiivisuus laskee ja kalsiumionien ulosvirtaus luusta alenee (kirjassa Sjaastad ym. 2003).

2.3 Kalsiumaineenvaihdunta lypsylehmällä tuotoskauden eri vaiheissa

Lypsylehmällä yksi tuotoskausi kestää keskimäärin 10 kuukautta (katsauksessa Horst ym. 2005). Lehmä tiineytetään yleensä ensimmäisen kolmen tuotoskuukauden aikana ja noin yhdeksän kuukauden kuluttua se poikii ollen kaksi viimeistä tiineyskuukautta ummessa (katsauksessa Horst ym. 2005).

Umpikauden aikana lehmän kalsiumin tarve vähenee merkittävästi, vaikka sikiön kasvuun kuluu enemmän kalsiumia (katsauksessa Horst ym. 2005). Sikiön luisen tukirangan kehitykseen ja kasvuun tarvitaan kalsiumia noin 10 g päivässä lopputiineyden aikana (katsauksessa Horst ym. 2005). Lopputiineyden aikana lehmä pystyy helposti pelkästään ravinnosta saatavalla kalsiumilla täyttämään sekä oman että sikiön kalsiumtarpeen (katsauksessa Horst ym. 2005).

Poikimisen aikaan lehmän elimistö kokee suuren muutoksen, kun se muuttuu ummessa olevasta maidon tuottavaksi lypsylehmäksi (katsauksessa Goff 2006). Tämä muutos vaikuttaa myös lehmän kalsiumaineenvaihduntaan ja kykyyn ylläpitää kalsiumtasapainoa. Maidontuotannon alkaessa kalsiumia tarvitaan eri paikassa elimistössä kuin umpikauden aikana. Lehmän ollessa ummessa kalsiumia erittyy pieniä määriä virtsaan, ulosteeseen ja istukan kautta sikiöön. Poikimistapahtuma saa aikaan sen, että kalsiumin erityys sikiöön lakkaa ja suuri määrä kalsiumia eritetään maitoon, tarkemmin ottaen ternimaitoon (katsauksessa Horst ym. 2005). Maidontuotantoon kuluva kalsium ylittää usein lehmän kyvyn täydentää nopeasti veren kalsiumvarastoja ja tästä seuraa se, että lehmän plasman kalsiumpitoisuus laskee äkillisesti (katsauksessa Horst ym. 2005).

Syitä tähän merkittävästi kasvaneeseen kalsiumin tarpeeseen laktaation alussa voidaan löytää lehmän perintötekijöistä sekä nykyisistä maidontuotantotavoista (katsauksessa Horst ym. 2005). Maidontuotannon maksimoimiseksi lehmät ovat suuren osan tuotokaudestaan tiineinä ja utarekudos on melkein täysin kehittynään siihen asti, kunnes lehmä umpeutetaan noin kaksi kuukautta ennen poikimista. Lehmän hyvin kehittynyt utarekudos ja korkea perinnöllinen tuotospotentiaali, jossa maitoa tuotetaan ylimäärin vasikan tarpeeseen nähden, johtavat siihen, että lehmä erittää kalsiumia maitoon niin paljon, että kulutus ylittää sikiön kalsiumtarpeen lopputiineyden aikana. Lopuksi vähintään kaksi

kertaa päivässä tapahtuva lypsäminen lypsykoneella saa aikaan suuren maitomäärän poistumisen utareesta melko lyhyessä ajassa (katsauksessa Horst ym. 2005).

Täysikasvuisella lehmällä on veren plasmaan varastoituneena noin 2 – 4 g kalsiumia, josta puolet on ionisoituneena (katsauksessa Horst ym. 2005). Korkeimman tuotannon vaiheessa lehmällä erittyy kalsiumia maitoon noin 80 g päivässä verrattuna ihmiseen, jonka imetyksen aikainen kalsiumineritys maitoon on vain noin 0,3 – 0,5 g päivässä (katsauksessa Horst ym. 2005). Tuotoskauden huipulla lehmä käytännössä tyhjentää plasman kalsiumvarastot 20 – 30 kertaa päivässä saadakseen riittävät kalsiumpitoisuudet maitoon (katsauksessa Horst ym. 2005). Suurin osa lehmistä onkin negatiivisessa kalsiumtasapainossa ensimmäisten tuotosviikkojen aikana sen takia, että entistä enemmän kalsiumia menetetään maitoon, virtsaan ja ulosteeseen eivätkä kalsiumaineenvaihdunnan korjausmekanismit ole välttämällä vielä kunnolla sopeutuneet vallitsevaan tilanteeseen (katsauksessa Horst ym. 1994).

Jotta saadaan nopeasti plasman kalsiumpitoisuudet normalisoitua, lehmän elimistössä tapahtuu kriittisiä adaptaatiomekanismeja ensimmäisten parin tuotospäivän aikana (katsauksessa Horst ym. 2005). Näihin parathormonin säätelemiin vaikutuksiin kuuluu, parathormonin vaikutuksesta, virtsaan hukatun kalsiumin reabsorptio munuaisista, luuston kalsiumin resorption lisääminen sekä kalsitriolin synteesin tehostaminen. Kalsitrioli taas lisää ravinnosta saatavan kalsiumin aktiivista imeytymistä suolistosta (katsauksessa Horst ym. 2005).

Kun maidontuotanto jatkuu, lehmä pysyy negatiivisessa kalsiumtasapainossa kuuden ensimmäisen tuotosviikon ajan (katsauksessa Horst ym. 2005). Tänä aikana lehmän menettää luustosta noin 13 % sen sisältämästä kokonaiskalsiumista. Lehmä kuitenkin korjaa luustosta menetetyn kalsiumin kuluvan tuotoskauden aikana ravinnosta saadun kalsiumin avulla (katsauksessa Horst ym. 2005).

3 SUBKLIININEN HYPOKALSEMIA

3.1 Hypokalsemiasta yleisesti

Täysikasvuisella lehmällä veren kokonaiskalsiumpitoisuus vaihtelee normaalisti välillä 2,1 – 2,5 mmol/l (8,5 – 10 mg/dl) (katsauksessa Goff 2000). Hypokalsemiaksi kutsutaan tilaa, jossa veren kalsiumpitoisuus laskee alle asetetun normaalitason (katsauksessa Goff 2008). Lehmällä tämä veren kalsiumpitoisuuden lasku tapahtuu yleensä silloin, kun lehmä poikii, ja sen maidontuotanto käynnistyy uudelleen umpikauden jälkeen (katsauksessa Horst ym. 2005). Hypokalsemia on siis seurausta siitä, kun lehmä ei kykene riittävän tehokkaasti korvaamaan maitoon menetettyä kalsiumia luustosta ja ravinnosta (katsauksessa Goff 2000). Utarekudoksen merkitystä elimistön kalsiumhomeostaasin suurimpana horjuttajana todistaa Goffin ym. (2002) tekemä tutkimus, jossa utareen poisto kirurgisesti esti täysin hypokalsemian vastapoikineilla lehmillä.

Lypsylehmällä hypokalsemia voi olla kliininen tai subkliininen sairaus. Kliiniseen hypokalsemiaan eli poikimahalvaukseen sairastuvat lehmät ovat yleensä poikineet 12 – 24 h sisällä (katsauksessa Horst ym. 2005). Kliinisen hypokalsemian oireita ovat mm. tajunnan tason aleneminen, perifeeristen osien viileneminen sekä lihasheikkous (Jawor ym. 2012, Miltenburg ym. 2016). Hypokalsemian pahetessa lehmä jää makaamaan ja tajunnan taso edelleen laskee (katsauksessa Horst ym. 2005). Kliinistä hypokalsemiaa sairastavien lehmien verestä mitatut kalsiumpitoisuudet ovat yleensä alle 1,37 mmol/l (5,5 mg/dl) (katsauksessa Horst ym. 2005).

Myös subkliinistä hypokalsemiaa esiintyy yleensä poikimisen jälkeen. Lehmä määritellään subkliinisesti hypokalseemiseksi, kun veren kalsiumpitoisuus laskee alle asetetun viiterajan, mutta lehmällä ei ole kliinisen sairauden oireita (Jawor ym. 2012, Oetzel 2013, Caixeta ym. 2017). Yleisesti ottaen lehmällä subkliinistä hypokalsemiaa esiintyy poikimisen jälkeen ensimmäisen kolmen vuorokauden aikana mutta lehmä voi vajota subkliinisesti hypokalseemiseksi myös myöhemmin lypsykauden aikana (Kamgarpour ym. 1999).

Ainoa varma keino subkliinisen hypokalsemian toteamiseksi on ottaa lehmältä poikimisen jälkeen verinäyte, jossa näkyy alentunut kalsiumpitoisuus (katsauksessa Goff 2008). Venjakob ym. (2016) tutkivat, kuinka luotettavasti hypokalsemian asteen voi määrittää tunnustelemalla lehmän korvien lämpötilaa. Ympäristön lämpötilan todettiin vaikuttavan merkittävästi korvien lämpötilaan eikä sitä sen takia voida pitää luotettavana tapana arvioida subkliinistä hypokalsemiaa.

Mitään tarkkaa veren kalsiumpitoisuuden raja-arvoa ei ole annettu sille, milloin lehmä on subkliinisesti hypokalseeminen. Eri tutkimuksissa on käytetty hieman erilaista veren kalsiumpitoisuuden raja-arvoa, jolla lehmät on luokiteltu subkliinisesti hypokalseemisiksi. Nevesin ym. (2017a) mukaan subkliinisen hypokalsemian luokitus on myös riippuvaista siitä, miten näytteenotto on ajoitettu suhteessa poikimiseen. Heppelmann ym. (2015) määrittelivät tutkimuksessaan lehmän subkliinisesti hypokalseemiseksi, jos sillä veren kokonaiskalsiumpitoisuus oli alle 2,0 mmol/l (8,0 mg/dl) ainakin yhtenä päivänä ensimmäisen 3 päivän aikana poikimisesta. Rodriguez ym. (2017) asettivat subkliiniselle hypokalsemialle raja-arvoksi veren kalsiumpitoisuuden 2,14 mmol/l (8,59 mg/dl). Goff ja Horst (1997) puolestaan määrittelivät lehmät subkliinisesti hypokalseemisiksi, jos plasman kalsiumpitoisuus laski alle 1,87 mmol/l (7,5 mg/dl) aikavälillä kaksi viikkoa ennen poikimista ja kaksi viikkoa poikimisen jälkeen.

Veren kalsiumpitoisuus on alhaisimmillaan tyypillisesti noin 12 – 24 tuntia poikimisesta (katsauksessa Goff 2008). Tällöin suurin osa lehmistä on jonkinasteisessa hypokalseemisessä tilassa, kun maidontuotannon alkaessa iso osa veren kalsiumista siirtyy maitoon, eikä lehmä ei kykene riittävän nopeasti korvaamaan maitoon menetettyä kalsiumia luustosta ja ravinnosta (katsauksessa Ramberg Jr. ym. 1984, katsauksessa Goff 2000). Yleensä tämä tila kestää vain muutaman päivän ja sen jälkeen veren kalsiumtasot korjaantuvat normaaliksi (katsauksessa Ramberg Jr. ym. 1984).

Eri tutkimuksissa subkliinisen hypokalsemian esiintyvyys vaihtelee välillä 18,9 – 73 % yli kaksi kertaa poikineilla lehmillä (Reinhardt ym. 2011, Caixeta ym. 2015, Gild ym. 2015). Yleisesti ottaen useamman kerran poikineista lehmistä yli 50 % kärsii jonkinasteisesta subkliinisestä hypokalsemiasta ensimmäisen kolmen päivän aikana poikimisesta (Reinhardt ym. 2011). Ensimmäisen kerran poikineista lehmistä jopa 25 prosentilla on subkliinistä hypokalsemiaa (Reinhardt ym. 2011).

Subkliinisen hypokalsemian esiintyvyyteen vaikuttaa myös umpikauden aikainen ruokinta. Kaksi tai useampaan kertaan poikineilla lehmillä, joita oli ruokittu tyypillisellä umpikauden rehustuksella, subkliinisen hypokalsemian esiintyvyys on noin 50 % (Oetzel 2013). Jos taas lehmillä on umpikauden aikana lisätty rehuun anionisia suoloja vähentämään kliinisen hypokalsemian riskiä, myös subkliinisten hypokalsemioiden esiintyvyys näillä lehmillä vähenee 15 – 25 % tasolle (Oetzel 2013).

3.2 Hypokalsemialle altistavat tekijät

Sekä kliiniselle että subkliiniselle hypokalsemialle ovat tutkijat löytäneet monia eri altistavia tekijöitä. Eniten on tutkittu ravinnon vaikutusta ennen poikimista hypokalsemian esiintyvyyteen. Näissä tutkimuksissa on havaittu, että suurin altistava tekijä hypokalsemialle on rehun korkea kationi-anioni -tase, joka aiheuttaa lehmälle metabolisen alkaloosin (katsauksessa Lean ym. 2006, katsauksessa Goff 2008). Muita hypokalsemialle altistavia tekijöitä ovat lehmästä itsestään johtuvia, mitä ovat muun muassa ikä, rotu ja perinnöllisyystekijät (katsauksessa Horst ym. 2005, Lean ym. 2006, Martinez ym. 2016, Neves ym. 2017a).

3.2.1 Metabolinen alkaloosi

Metabolinen alkaloosi on elimistön happo-emästasapainon häiriö, jossa elimistön vetyionipitoisuus on alentunut, ja tästä seuraa se, että veren sekä kudostesteen pH nousee (kirjassa Sjaastad ym. 2003). Metabolisen alkaloosin esiintymisen lehmällä ennen poikimista on todettu lisäävän riskiä sairastua sekä kliiniseen että subkliiniseen hypokalsemiaan (katsauksessa Goff 2008).

Lehmällä metabolinen alkaloosi on pääasiassa seurausta siitä, että ravinnosta verenkiertoon päätyy suhteessa enemmän positiivisesti varautuneita kationeita kuin negatiivisesti varautuneita anioneita (katsauksessa Goff 2008). Kationeita ovat kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg) ja kalsium (Ca), ja vastaavasti anioneita ovat kloridi (Cl), sulfaatti (SO₄) ja fosfaatti (PO₄). Kun kationeita on enemmän verenkierrossa kuin anioneita, veren ja kudostesteen välillä olevaan sähkövaraukseen syntyy epäsuhtaa. Tällöin elimistö pyr-

kii palauttamaan varaustasapainon veren ja kudostesteen välillä, ja verestä poistetaan positiivisesti varautuneita vetyioneita (H^+) sillä seurauksella, että veren pH nousee (katsauksessa Goff 2008).

Ravinnosta imeytyvien kationeiden ja anioneiden lukumäärään erotus määrittää elimistön yleistä happo-emästasapainoa ja siten myös veren pH:ta (katsauksessa Goff 2008). Kationi-anionisuhteen mittarina käytetään yleisesti mEq/kg ka eli milliekvivalenttia kilogrammassa kuiva-ainetta (katsauksessa Goff 2008). Leanin ym. (2006) mukaan, kun umpikaudella kationi-anioni suhde rehussa nousee -25 milliekvivalentista +25 milliekvivalenttiin per 100 g rehua, nousee myös poikimahalvausriski 110 %. Erityisesti korkeat kaliumpitoisuudet ravinnossa lisäsivät kliinisten hypokalsemioiden esiintyvyyttä (Lean ym. 2006).

Goff (2008) on katsauksessaan esittänyt naudan elimistön alkaloosin vaikutusta kalsiumaineenvaihduntaan. Artikkelissa todetaan, että alkaloosi heikentää kudosten vastetta parathormonille muuttamalla parathormonireseptorien muotoa, minkä seurauksena kudokset eivät ole niin herkkiä parathormonin vaikutukselle. Luukudoksessa tämä estää luun soluväliaineessa olevan kalsiumin tehokkaan hyödyntämisen sekä estää myös osteoklastien luun resorptiota. Lisäksi artikkelissa todetaan, että munuaisissa kalsiumin reabsorptio munuaissuodoksesta heikkenee eivätkä munuaiset pysty tehokkaasti muuttamaan kalsidiolia kalsitrioliksi, jolloin suolistosta imeytyvän kalsiumin osuus laskee merkittävästi.

3.2.2 Hypomagnesemia

Riittämätön magnesiumin saanti ravinnosta saa aikaan sen, että lehmälle tulee hypomagnesemia. Hypomagnesemiaa pidetään yhtenä merkittävimmistä hypokalsemiaan altistavista riskitekijöistä (katsauksessa Goff 2014). Hypomagnesemia vaikuttaa kalsiumaineenvaihduntaan kahdella tavalla. Se heikentää kudosten herkkyyttä parathormonille sekä myös alentaa parathormonin eritystä (katsauksessa Goff 2008).

Jotta kalsiumaineenvaihdunta toimii normaalisti, on tärkeää, että parathormonin ja sen reseptorin välinen vuorovaikutus toimii aukottomasti (katsauksessa Goff 2014). Magne-

siumilla on tärkeä rooli tässä prosessissa, koska se on yhtenä komponenttina parathormonireseptorin aktivaatioprosessissa (katsauksessa Goff 2008). Kun parathormoni sitoutuu kohdekudoksessa reseptoriinsa, käynnistyy adenylaattisyklaasientsyymin aktivaatio. Entsyymi alkaa tuottaa toisiolähtettä toimivaa syklistä AMP:tä. Parathormonireseptorin vaikutuksesta myös fosfolipaasi C -entsyymi aktivoituu ja se alkaa tuottaa toisiolähteitä kuten diasyylyglyserolia ja inositoli-1,4,5-trifosfaattia. Sekä diasyylyglyserolilla että inositoli-1,4,5-trifosfaatilla on magnesiumionin sitooutumiskohta, johon magnesiumionin pitää olla sitoutuneena. Jos magnesiumista on vajea eivät nämä toisiolähtetä pysty kunnolla toimimaan ja vaste parathormonille jää vajavaiseksi. Hypomagnesemia yksinään ilman metabolista alkaloosia voi häiritä parathormonin kykyä toimia kohdekudoksissaan (katsauksessa Goff 2008).

3.2.3 Muita hypokalsemialle altistavia tekijöitä

Muita hypokalsemialle altistavia tekijöitä, joita kirjallisuudessa kuvataan ovat muun muassa lehmän ikä sekä rotu (katsauksessa Horst ym. 2005, Lean ym. 2006, Martinez ym. 2016, Neves ym. 2017a). Lehmän ikääntyessä vaikeutuu myös sen kyky ylläpitää elimistön kalsiumhomeostaasia (katsauksessa Horst ym. 2005). Jokaisen poikimakerran on todettu lisäävän kliinisen hypokalsemian riskiä 9 prosentilla (katsauksessa DeGaris ja Lean 2008). Neves ym. (2017a) tutkimuksessaan havaitsivat, että yli kolme kertaa poikineilla lehmillä oli noin 70 prosenttia suurempi todennäköisyys olla subkliinisesti hypokalsemisiä verrattuna vasta kaksi kertaa poikineisiin lehtiin. Lehmän ikääntyminen saa aikaan myös sen, että kalsiumin aktiivinen absorptio suolistosta alenee (katsauksessa Horst ym. 2005). Nuorten vielä kasvuvaiheessa olevien nautojen suolistossa kalsiumin imeytyminen on paljon tehokkaampaa kuin vanhemmilla, kasvunsa jo päättäneet naudoilla (katsauksessa Horst ym. 2005). Vanhoilla lehmillä myös luuston kalsiumin mobilisointi on alentunut sen vuoksi, että luusolujen herkkyys parathormonille ja kalsitriolille on alentunut (Lean ym. 2006).

Lehmän ikääntyessä myös eritetyn maidon määrä kasvaa (katsauksessa Horst ym. 2005). Tämä lisääntynyt maitomäärä myös lisää elimistön kalsiumintarvetta (katsauksessa Horst ym. 2005). Martinez ym. (2016) tutkimuksessaan havaitsivat, että vanhemmat lehmät tuottivat noin 2,5 kg enemmän ternimaitoa hiehoihin verrattuna, minkä vuoksi kalsiumia

hukkaantuu maitoon lisää noin 5,5 g, mikä osaltaan vaikeuttaa huomattavasti lehmän kykyä ylläpitää veressä normaalia kalsiumpitoisuutta. Vanhemmat lehmät ovat myös ensikoita kookkaampia, ja niiden laajempi ja tilavampi verisuonisto voivat saada aikaan sen, että osa suolistosta imeytynyt kalsium laimenee suhteettomasti päästessään verenkiertoon (Martinez ym. 2016).

Lehmän rotu on vaikuttaa riskiin sairastua hypokalsemiaan. Jersey-rotuiset lehmät ovat noin kaksi kertaa alttiimpia sairastumaan kuin holstein-rotuiset lehmät (Lean ym. 2006). Myös ayshire-rotuisilla lehmillä on suurempi riski sairastua hypokalsemiaan verrattuna holsteiniin (Lean ym. 2006).

4 HYPOKALSEMIAN VAIKUTUS NAUDAN ELIMISTÖSSÄ

Koska kalsium on hyvin tärkeässä roolissa monissa elimistön aineenvaihdunnallisissa prosesseissa, on hypokalsemiolla merkittäviä haitallisia vaikutuksia useiden eri kudosten ja elinten toimintaan (Ramberg Jr. ym. 1984). Naudalla hypokalsemian epäsuotuisien vaikutusten kuvaus on keskittynyt erityisesti ruoansulatuskanavan toimintaan sekä kokonaisenergiatasapainoon, koska ne ovat tärkeässä yhteydessä tuotokseen (Hansen ym. 2003, Chamberlin ym. 2013, Martinez ym. 2014). Lisäksi hypokalsemia heikentää naudan vastustuskykyä (Kimura ym. 2006, Martinez ym. 2012).

4.1 Hypokalsemian vaikutus naudan vastustuskykyyn

Poikimisen aikaan lehmän vastustuskyky on alentunut (Kimura ym. 2006). Tarkkaa mekanismia, miksi näin käy, ei tiedetä (Kimura ym. 2006). Tutkimuksissa on kuitenkin löydetty viitteitä siitä, että poikimisen aikaan koettu hypokalsemia voi olla yhtenä osatekijänä alentamassa edelleen lehmän vastustuskykyä, koska kalsiumilla on myös tärkeä rooli immuunisolujen aktivaatiossa (Ducusin ym. 2003, Kimura ym. 2006, Martinez ym. 2012).

Hypokalsemia vaikuttaa pääasiassa luonnollisen immunitetin komponentteihin ja siinä erityisesti syöjäsoluihin, veren monosyytteihin ja neutrofiilisiin valkosoluihin (Kimura

ym. 2006, Martinez ym. 2012). Syöjäsolujen aktivaatiossa keskeisessä asemassa on ionisoituneen kalsiumin konsentraation nousu solun sisällä, mikä saa aikaan reaktioketjun, jonka seurauksena fagosytoidut mikrobit tuhoetaan (Kimura ym. 2006, katsauksessa Brechard ja Tschirhart 2008). Syöjäsolujen aktivaatioon tarvittava kalsium on varastoitu sen solulimakalvostoon (Kimura ym. 2006, Martinez ym. 2012). Reseptoriaktivaation seurauksena solulimakalvostoon varastoitu kalsium vapautetaan solulimaan, jolloin soluliman kalsiumkonsentraatio nousee jopa kymmenkertaiseksi normaalitasoon verrattuna (katsauksessa Brechard ja Tschirhart 2008). Soluliman korkea kalsiumkonsentraatio aktivoi oksidatiivisia entsyymejä muodostamaan reaktiivisia happijohdannaisia, jotka tappavat fagosytoituja mikrobeja (katsauksessa Brechard ja Tschirhart 2008). Koska hypokalseemisilla lehmillä veren kalsiumpitoisuus on alentunut, myös niiden syöjäsolujen solulimakalvostossa on vähemmän käytettävissä olevaa kalsiumia varastoituneena (Kimura ym. 2006). Tästä seuraa se, että soluliman kalsiumpitoisuus ei nouse riittävälle tasolle, jolloin syöjäsolujen kyky fagosytoida ja tuhota taudinaiheuttajamikrobeja heikkenee huomattavasti (Martinez ym. 2012). Kimura ym. (2006) havaitsivat, että mononukleaarisolujen solulimakalvostoon varastoituneen kalsiumin pitoisuus laski lehmän poikimisen lähestyessä ja vastaavasti pitoisuudet nousivat poikimisen jälkeen, kun lehmän veren kalsiumpitoisuudet olivat normalisoituneet.

Hypokalsemia vaikuttaa myös immuunisolujen lukumäärään. Martinez ym. (2012) tutkimuksessaan havaitsivat, että subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä oli vähemmän valkosoluja veressä ensimmäisen kolmen vuorokauden aikana poikimisen jälkeen, kun niitä verrattiin normokalseemisiin lehmiin. Valkosolupopulaation väheneminen näkyi erityisesti neutrofiilisissa valkosoluissa, kun taas lymfosyyteissä ei vastaavaa alenemaa havaittu (Martinez ym. 2012). Tuoreemmassa tutkimuksessaan Martinez ym. (2014) havaitsivat, että hypokalsemia ei ainoastaan vaikuttanut veressä oleviin kypsiin neutrofiileihin, vaan myös sekä luuytimeen varastoituneisiin että viimeistä kehitysvaihettaan käyviin soluihin.

4.2 Hypokalsemian vaikutus syöntiin, mahojen toimintaan sekä rasva-aineenvaihduntaan

Lypsylehmällä kuiva-aineen syöntikyky alenee poikimisen lähestyessä ja se normalisoituu poikimisen jälkeen muutamassa päivässä (Goff ja Horst 1997). Alentunut kuiva-aineen syöntikyky voi altistaa lehmän tuotantosairauksille kuten esimerkiksi rasvamaksan muodostumiselle (Bertics ym. 1992). Tutkimukset ovat osoittaneet, että alentuneen kuiva-aineen syöntikyvyn ja subkliinisen hypokalsemian välillä on yhteys (Hansen ym. 2003, Martinez ym. 2014).

Hansen ym. (2003) tutkimuksessaan indusoivat kokeellisesti lehmille subkliinisen hypokalsemian (plasman ionisoitu kalsium [iCa^{2+}] 0,6 – 0,9 mmol/l) ja havaitsivat, että kuiva-aineen syöntikyky aleni samassa suhteessa kuin veren kalsiumpitoisuus laski. Toisessa hyvin samantyyppisessä tutkimuksessa (Martinez ym. 2014) havaittiin, että subkliinisen hypokalsemian indusoiminen vähensi kuiva-aineen syöntikykyä, kun veren kalsiumpitoisuus oli matala (iCa^{2+} 0,7 – 0,9 mmol/l), mutta ruokahalu palautui normaaliksi, kun veren kalsiumpitoisuus nousi normaalitasolle.

Lehmällä subkliinisen hypokalsemian (plasman iCa^{2+} 0,7 – 0,9 mmol/l) aikana tapahtuva ruokahalun aleneminen on noin 25 % luokkaa (Hansen ym. 2003). Muita kliiniseen hypokalsemiaan viittaavia oireita ei vielä tässä vaiheessa ole havaittavissa. Hansen ym. (2003) pohtivat sitä, pystyvätkö tilalliset havainnoimaan näin pientä syöntikyvyn alenemaa, kun lehmä muuten näyttää kliinisesti terveeltä.

Hypokalsemia alentaa pötsin ja juoksutusmahan motiliteettia (Katsauksessa Goff 2008). Martinez ym. (2014) totesivat, että subkliininen hypokalsemia heikentää pötsin kontraktioita ja sitä kautta vaikuttaa märehitimiseen sekä pötsin partikkeleiden etenemisnopeuteen, mikä voi vaikuttaa pötsin täyteisyyteen. Samassa tutkimuksessa havaittiin, että subkliininen hypokalsemia harvensi pötsin kontraktioita ($1,9 \pm 0,2$ vs. $2,7 \pm 0,2$ kontraktiota per 2 min). Toisessa Danielin (1983) tekemässä tutkimuksessa huomattiin, että kun plasman kalsiumpitoisuus laskee, vastaavasti vähenee myös pötsin kontraktiot per minuutti sekä kontraktioiden voimakkuus. Juoksutusmahan kohdalla havaittiin selkeä yhteys las-

kevaan kalsiumpitoisuuteen ja juoksutusmahan kontraktioiden vähenemiseen per minuutti mutta ei niin selkeää yhteyttä juoksutusmahan kontraktioiden voimakkuuteen (Daniel 1983).

Hypokalsemialla on vaikutusta lehmän rasva-aineenvaihduntaan sekä energiatasapainoon (Chamberlin ym. 2013, Martinez ym. 2014). Hypokalsemian aiheuttama heikentynyt kuiva-aineen syönti aiheuttaa lehmällä energiavajetta, jonka korjaamiseksi elimistö joutuu vapauttaa rasvoja rasvakudoksesta (katsauksessa Goff 2008, Chamberlin ym. 2013). Hypokalseemiset lehmät mobilisoivat enemmän elimistön rasvoja, minkä seurauksena vapaiden rasvahappojen (nonesterified fatty acids, NEFA) pitoisuudet veressä ovat korkeammat normokalseemisiin verrattuna (katsauksessa Goff 2008, Chamberlin ym. 2013). Subkliininen hypokalsemia saa aikaan sen, että NEFA-pitoisuus veressä on koholla heti poikimisen jälkeen (Chamberlin ym. 2013, Martinez ym. 2014). Chamberlinin ym. (2013) tekemässä tutkimuksessa havaittiin, että subkliinisesti hypokalseemisten lehmien maksasoluihin oli normokalseemisiin verrattuna kertynyt enemmän rasvaa 7 vuorokautta poikimisesta, ja vielä 35 vuorokauden jälkeen poikimisesta subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä oli merkitsevästi enemmän rasvaa maksasoluissa. Tutkimuksesta saadut tulokset viittaavat siihen, että subkliinisesti hypokalseemiset lehmät mobilisoivat enemmän rasvaa maksaan poikimisenjälkeisen ensimmäisen viikon aikana, mikä voi vaikuttaa maksan rasvapitoisuuteen vielä viikkojenkin päästä ja näin ollen lisätä riskiä sairastua rasvamaksaan (Chamberlin ym. 2013).

Subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä on normokalseemisiin verrattuna korkeammat veren glukoosipitoisuudet ja vastaavasti alhaisemmat insuliinipitoisuudet (Martinez ym. 2014). Subkliininen hypokalsemia heikentää insuliinin erityystä haimasta ja tämä puolestaan saa aikaan veren glukoosipitoisuuden nousun, kun perifeerisissä kudoksissa glukosin sisäänotto soluihin heikkenee (Martinez ym. 2014). Insuliini- ja glukoosimetabolian heikentyminen voi lisätä lipolyyttisiä signaaleita ja edistää kudostaboliaa, ja tämän takia altistaa lehmiä rasva-aineenvaihdunnan häiriöille kuten ketoosille (Martinez ym. 2014).

5 SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN YHTEYS ERI SAIRAUKSIIN

5.1 Metriitti

Metriitti eli kohtutulehdus on yksi sairauksista, jonka syntyy subkliinistä hypokalsemiaa pidetään yhtenä osatekijänä (Martinez ym. 2012, Chamberlin ym. 2013, Heppelmann ym. 2015). Metriitti on seurausta kohdun bakteeri-infektiosta ja siihen sairastuvat yleensä vastapoikineet lehmät (katsauksessa Sheldon ym. 2006). Siinä oireina ovat tyypillisesti epänormaalin laaja kohtu ja emättimestä valuva haiseva märkäinen erite, minkä lisäksi lehmällä voi olla kuumetta (Martinez ym. 2012, Chamberlin ym. 2013, Neves ym. 2017b, Rodríguez ym. 2017, Wilhelm ym. 2017).

Koska hypokalsemia heikentää lihasten supistumista (katsauksessa Goff 2008), heikentää se myös kohdussa olevien sileiden lihasten supistuskkyä ja sitä kautta voi vaikuttaa kohdun tyhjentymiseen poikimisen jälkeen. Tutkimuksessaan Al-Eknaah ja Noakes (1989) kokeellisesti indusoivat poikimassa oleville lehmille hypokalsemian ja totesivat, että hypokalsemia alentaa kohdun supistustiheyttä ja heikentää supistusten voimakkuutta. Kohdun involuutio hidastuu (Heppelmann ym. 2015), jolloin bakteerien on helpompi päästä kohtuun ja aiheuttaa tulehdusta. Subkliininen hypokalsemia alentaa myös lehmän vastustuskykyä heikentämällä valkosolujen kykyä fagosytoida ja tuhota patogeenisiä bakteereita (Martinez ym. 2012). Tämä saa aikaan sen, että lehmän on vaikeampi päästä eroon kohtua infektoivista bakteereista (Martinez ym. 2012).

Martinez ym. (2012) havaitsivat, että poikimisen aikaan subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä oli noin kolminkertainen riski sairastua metriittiin verrattuna lehmiin, joiden kalsiumpitoisuudet olivat normaalit. Samassa tutkimuksessa tarkasteltiin myös erikseen kuumaisen metriitin (rektaalilämpö $\geq 39,5$ °C) esiintyvyyttä ja havaittiin, että subkliinisesti hypokalseemisten lehmien riski sairastua tähän oli yli kymmenkertainen verrattuna normokalseemisiin lehmisiin. Wilhelm ym. (2017) mukaan poikimisen aikaan subkliinisesti hypokalseemisista lehmistä suurempi osa sairastui metriittiin kuin mitä normokalseemisista lehmistä. Rodríguez ym. (2017) puolestaan havaitsivat, että useamman kerran poikineilla subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä oli yli nelinkertaisesti suurempi todennäköisyys sairastua metriittiin verrattuna saman ikäryhmän normokalseemisiin lehmisiin.

Ensikoihin verrattuna useamman kerran poikineet sairastuivat todennäköisemmin metriittiin silloin, kun seerumin kalsiumpitoisuudet olivat alle 2,1 mmol/l (8,5 mg/dl) (Rodríguez ym. 2017).

Chamberlin ym. (2013) sitä vastoin eivät havainneet eroa metriitin esiintyvyydessä subkliinisesti hypokalseemisten ja normokalseemisten lehmien välillä. Myöskään Neves ym. (2017b), jotka eivät löytäneet yhteyttä poikimisen jälkeen mitatun plasman kalsiumpitoisuuden ja metriittiin sairastumisen välillä.

5.2 Juoksutusmahan siirtymät

Juoksutusmahan siirtymät on toinen sairausryhmä, jonka syntyyn subkliinisellä hypokalsemialla uskotaan olevan vaikutusta (katsauksessa Goff 2008). Hypokalsemian tiedetään alentavan juoksutusmahan motiliteettia, mikä voi johtaa siihen, että juoksutusmaha siirtyy helpommin pois omalta paikaltaan (Daniel 1983).

Massey ym. (1993) havaitsivat, että poikimisen aikaan hypokalseemisilla lehmillä, joilla seerumin kalsiumpitoisuus oli alle 1,97 mmol/l (7,88 mg/dl), oli yli nelinkertainen riski sairastua juoksutusmahan siirtymään verrattuna normokalseemisiin lehmiin. Heidän mukaansa todennäköisyys sairastua juoksutusmahan siirtymään on yhtä suuri riippumatta siitä, onko ei hypokalsemia kliininen vai subkliininen Rodríguez ym. (2017) havaitsivat, että subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä, joilla seerumin kokonaiskalsiumpitoisuus oli alle 2,14 mmol/l (8,5 mg/dl), oli 3,7 kertaa suurempi todennäköisyys sairastua juoksutusmahan siirtymään riippumatta poikimakerrasta. Neves ym. (2017b) puolestaan havaitsivat, että useamman kerran poikineilla lehmillä, joilla kalsiumpitoisuus oli alle 1,85 mmol/l (7,4 mg/dl), oli korkeampi riski sairastua juoksutusmahan siirtymään.

LeBlanc ym. (2005) tutkivat sitä, voiko vasemmanpuoleisen juoksutusmahan siirtymän riskiä ennustaa kliinisessä työssä tarjolla olevien metabolisten testien avulla. Tutkimuksessa otettiin lehmiltä ennen poikimista ja poikimisen jälkeen viikoittain verinäytteet, joista tutkittiin vapaat rasvahapot (NEFA), beta-hydroksibutyraatti (BHBA), glukoosi, urea, kalsium ja fosfori, sekä otettiin myös maidonäytteet poikimisen jälkeen BHBA:n määrittystä varten. Tutkimuksessa havaittiin, että hypokalsemia yksinään ei aiheuta juoksutusmahan siirtymiä (LeBlanc ym. 2005).

LeBlanc ym. (2005) pohtivat myös sitä, että hypokalsemia saattaa paremminkin olla vain oire kuin syy juoksutusmahan siirtymiin. Hypokalseemisilla lehmillä on usein kohonneet NEFA-pitoisuudet veressä, ja kohonneiden NEFA -pitoisuuksien todettiin olevan suora yhteys kohonneeseen riskiin sairastua juoksutusmahan siirtymään (LeBlanc ym. 2005). Tätä tukee myös Chapinalin ym. (2011) tutkimus, jossa todettiin, että kohonneet NEFA-pitoisuudet ennen ja jälkeen poikimisen yhdistettynä alentuneisiin kalsiumpitoisuuksiin poikimisen jälkeen lisäsivät riskiä sairastua juoksutusmahan siirtymiin.

5.3 Mastiitti

Hypokalsemia alentaa lihasten supistumiskykyä sekä poikkijuovaisissa että sileissä lihaksissa mukaan lukien vedinaukon sulkijalihaksessa, jolloin riski sairastua utaretulehdukseen eli mastiittiin voi kasvaa (katsauksessa Goff 2008). Toinen mahdollinen mekanismi on, että poikimisen aikaan alhainen kalsiumpitoisuus aiheuttaa heikentyneen immuunivasteen ja sitä kautta voi altistaa lehmän kehittämään mastiitin (Neves ym. 2017b). Sitä, kuinka suuri merkitys subkliinisellä hypokalsemialla on mastiitin esiintyvyyteen vastapoikineella lehmällä, ei ole kovin paljon vielä tutkittu, mutta muutama melko tuore julkaisu (Chamberlin ym. 2013, Wilhelm ym. 2017, Rodríguez ym. 2017) antavat alustavaa tietoa aiheesta.

Chamberlin ym. (2013) tarkastelivat tutkimuksessaan, vaikuttaako poikimisen aikainen subkliininen hypokalsemia mm. mastiittien esiintyvyyteen. Tutkimuksessa lehmä määriteltiin subkliinisesti hypokalseemiseksi, kun sen veren ionisoitu kalsiumpitoisuus poikimipäivänä oli alle 1,0 mmol/l eikä sillä ollut kliinisen hypokalsemian oireita. Noin sadasta lehmästä saadun aineiston perusteella subkliinisesti hypokalseemisten lehmien todennäköisyys sairastua mastiittiin oli sama kuin normokalseemisilla lehmillä (Chamberlin ym. 2013). Myös Wilhelm ym. (2017) päätyvät samaan lopputulokseen. Heidän isommalla eläinmäärällä (773 lehmää) tehdyssä tutkimuksessa todettiin, että hypokalsemia heti poikimisen jälkeen (seerumin kokonaiskalsiumpitoisuus alle 2,0 mmol/l) ei lisännyt mastiitin esiintyvyyttä normokalseemisiin verrattuna. Rodríguez ym. (2017) tutkimuksessa ei havaittu normokalseemisten ja subkliinisesti hypokalseemisten välillä eroa maidon somaattisen solujen lukumäärässä. Heidän mukaansa saadut tulokset viittaavat siihen, että

subkliinisessä hypokalsemiassa kalsiumin lasku ei ole riittävän suurta aiheuttamaan immunivajausta ja sitä kautta altistamaan lehmää mastiitille.

5.4 Ketoosi

Subkliinisen hypokalsemian on todettu vaikuttavan negatiivisesti lehmän rasva-aineenvaihduntaan ja energiatasapainoon (Chamberlin ym. 2013, Martinez ym. 2014), jolloin myös riski ketoosin syntyyn on mahdollinen. Se miten subkliininen hypokalsemia altistaa lehmän sairastumaan ketoosiin voi johtua mekanismeista, jotka liittyvät todennäköisesti kalsiumvajeen aiheuttamiin muutoksiin glukoosimetaboliassa (Rodríguez ym. 2017).

Subkliinisen hypokalsemian yhteyttä ketoosiin on tutkittu vielä vähän ja aiheesta löytyvien tutkimusten tulokset ovat olleet ristiriitaisia. Rodríguez ym. (2017) havaitsivat, että poikimisen jälkeen subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä oli 5,5 kertaa suurempi todennäköisyys sairastua ketoosiin verrattuna normokalseemisiin lehmiin. Ribeiro ym. (2013) totesivat, että lehmillä, joilla oli diagnosoitu ketoosi, seerumin kalsiumpitoisuudet viikko poikimisesta olivat alhaisemmat kuin lehmillä, joilla ei ollut ketoosia. Chamberlin ym. (2013) puolestaan eivät löytäneet eroja ketoosin esiintyvyydessä subkliinisesti hypokalseemisten ja normokalseemisten lehmien välillä.

6 SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN YHTEYS MAIDONTUOTANNON TUNNUSLUKUIHIN

6.1 Maitotuotos

Subkliinisen hypokalsemian vaikutuksesta maitotuotokseen löytyy melko ristiriitaista tietoa. Jaworin ym. (2012) tekemän tutkimuksen mukaan lehmät, jotka olivat poikimisen aikaan subkliinisesti hypokalseemisia, tuottivat keskimäärin 5,7 kg enemmän maitoa päivässä ensimmäisen tuotoskuukauden aikana verrattuna niihin lehtiin, joilla ei ollut hypokalsemiaa poikimisen aikaan. Kolme kertaa poikineilla lehmillä, joilla oli subkliininen hypokalsemia poikimisen aikaan, tuottivat koko tuotoskauden (280 päivää maidossa) enemmän maitoa päivässä, kun niitä verrattiin yhtä monta kertaa poikineisiin normokalseemisiin lehtiin (Jawor ym. 2012). Tutkimuksessa ei saatu selville, millä mekanismeilla poikimisen aikainen hypokalsemia saa aikaan maitotuotoksen merkittävän kasvun useiksi viikoiksi tai koko tuotoskauden ajaksi (Jawor ym. 2012).

Myös Gild ym. (2015) havaitsivat, että subkliinisesti hypokalseemiset lehmät tuottivat kuuden tuotoskuukauden aikana enemmän maitoa kuin normokalseemiset lehmät.

Syyksi tähän korkeampaan maitotuotokseen esitettiin, että se voi johtua näiden lehmien korkeammasta geneettisestä potentiaalista tuottaa maitoa, jolloin ne tuottavat enemmän maitoa ja sen vuoksi niillä on alhaisemmat kalsiumpitoisuudet veressä (Gild ym. 2015). Korkean geneettisen potentiaalin vuoksi hypokalseemiset lehmät olisivat ne voineet tuottaa vielä enemmän maitoa, jos ne olisivat olleet normokalseemisia (Gild ym. 2015).

Hieman erilainen tulos subkliinisen hypokalsemian vaikutuksesta maitotuotokseen löytyy Martinezin ym. (2012) tutkimuksesta. Siinä ensimmäisen kuukauden aikana mitattu maitotuotos ei eronnut normokalseemisten ja subkliinisesti hypokalseemisten ryhmien välillä (Martinez ym. 2012). Myös tuoreemassa Rodriguezin ym. (2017) tekemässä tutkimuksessa ei havaittu eroja maitotuotoksessa subkliinesti hypokalseemisten ja normokalseemisten lehmien välillä ensimmäisen 60 tuotosvuorokauden aikana.

6.2 Hedelmällisyys

Subkliinisen hypokalsemian vaikutuksesta lehmän hedelmällisyyteen on tehty melko vähän julkaistuja tutkimuksia. Hypokalsemian vaikutusmekanismiakaan ei tunneta. Jonsson ja Daniel (1997) ovat kuitenkin esittäneet, alhainen plasman kalsiumpitoisuus heikentää verenvirtausta munasarjoihin ja näin ollen voi heikentää munasarjojen toimintaa.

Kamgarpour ym. (1999) seurasivat lehmillä poikimisen jälkeen plasman kalsiumpitoisuuksia kuuden viikon ajan, ja keräämänsä aineiston perusteella esittivät, että munasarjojen toiminnan käynnistyminen voi olla hitaampaa lehmillä, joilla seurantajakson aikana plasman kalsiumpitoisuudet laskivat hetkellisesti alle 2,0 mmol/l. Heidän aineistostaan kävi ilmi, että subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä munasarjatoiminta oli heikompaa normokalseemisiin verrattuna. Myös Ribeiron ym. (2013) ja Caixetan ym. (2017) mukaan poikimisen aikaan subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä kiimakiertojen käynnistyminen oli viivästynyt. Lisäksi subkliinisesti hypokalseemiset lehmillä on enemmän kiimakieeron häiriöitä, kuten anovulaatioita (Ribeiro ym. 2013) ja niiden todennäköisyys tiinehtyä ensimmäiseen siemennykseen oli alhaisempi normokalseemisiin verrattuna (Caixeta ym. 2017).

Vastakkainen näkemys subkliinisen hypokalsemian vaikutuksesta hedelmällisyyteen löytyy Chambelinin ym. (2013) tekemästä tutkimuksesta, jossa ei löytynyt tilastollisesti merkitseviä eroja kiimakiertojen käynnistymisessä ja tiinehtyvyydessä poikimisen aikaan subkliinisesti hypokalseemisten ja normokalseemisten lehmien välillä. Normokalseemisilla lehmillä oli hieman paremmat tulokset kiimakiertojen käynnistymisessä sekä tiinehtyvyydessä verrattuna hypokalseemisiin lemiin, mutta erot eivät olleet niin suuret, että niistä olisi voinut tehdä mitään suurempia johtopäätöksiä (Chamberlin ym. 2013). Myös Wilhelm ym. (2017) totesivat, että aloitussiemennysten ajankohta ei eronnut subkliinisesti hypokalseemisten ja normokalseemisten lehmien välillä. Lisäksi ensimmäisestä siemennyksestä tiinehtyneiden lehmien osuudessa ei ollut eroa normokalseemisten ja subkliinisesti hypokalseemisten välillä (Wilhelm ym. 2017). Rodríguez ym. (2017) puolestaan havaitsivat, ettei subkliininen hypokalsemia lisännyt lehmällä siemennysten lukumäärää tiineyttä kohden.

7 SUBKLIINISEN HYPOKALSEMIAN EHKÄISEMINEN

Subkliinisesti hypokalseemisten lehmien tunnistaminen on käytännössä mahdotonta, sillä niillä ei ole selkeitä kliinisiä oireita (Oetzel ja Miller 2012). Siksi ainoa vaihtoehto hoitaa subkliinistä hypokalsemiaa on yrittää ennaltaehkäistä sitä (Oetzel ja Miller 2012).

Yksi lähestymistapa subkliinisen hypokalsemian ehkäisyssä on antaa lehmälle poikimisen jälkeen kalsiumia suun kautta (katsauksessa Goff 2008, Oetzel ja Miller 2012, Blanc ym. 2014). Antamalla lehmälle suun kautta kalsiumia saadaan aikaan ruoansulatuskanavassa korkea kalsiumgradientti, jolloin kalsium imeytyy passiivisella diffuusiolla suolen seinämän solujen välistä verenkiertoon ja sitä kautta auttaa lehmää ylläpitämään veren normaalia kalsiumpitoisuutta (katsauksessa Goff 2008). Parhaat tulokset hypokalsemian ehkäisyssä ja hoidossa saavutetaan, kun annetaan suun kautta kalsiumia yksi annos heti poikimisen jälkeen ja toinen annos 24 tunnin kuluttua (katsauksessa Goff 2008). Toisaalta Martinezin ym. (2016) mukaan subkliinisen hypokalsemian esiintyvyyttä saadaan tehokaimmin alennettua menetelmällä, jossa vastapoikineelle lehmälle annetaan suun kautta kalsiumia neljänä peräkkäisenä päivänä.

Suun kautta annettavista kalsiumsuoloista kalsiumkloridilla on todettu olevat paras vaikutus veren kalsiumpitoisuuksiin, mutta huonona puolena se voi ärsyttää limakalvoja varsinkin, jos sitä annostellaan liuoksena (katsauksessa Goff 2008, katsauksessa Oetzel 2013). Kalsiumpropionaatti on vähemmän kudosärsyttävää mutta hitaamman imeytymisen takia sitä täytyy annostella suurempina annoksina kuin kalsiumkloridia (katsauksessa Oetzel 2013).

Oetzel ja Miller (2012) eivät löytäneet tilastollisesti merkitsevää nousua lehmän seerumin ionisoiduissa kalsiumpitoisuuksissa, kun he olivat antaneet suun kautta kalsiumkloridia ja -sulfaattia sisältävän boluksen (Bovicalc®) 8 – 35 tunnin kuluttua poikimisesta. Tutkimus kuitenkin antoi viitteitä siitä, että erityisesti vanhat korkeatuotoksiset lehmät ja ne lehmät, jotka ovat poikimisen aikaan ontuneet, voisivat hyötyä suun kautta annetusta kalsiumista (Oetzel ja Miller 2012). Blanc ym. (2014) seurasivat poikimisen jälkeen suun kautta annetun kalsiumin (kaksi Bovicalc® -bolusta 12 tunnin välein) vaikutuksia seerumin kalsiumpitoisuuksiin 48 tunnin ajan 11 lehmällä ja vertasivat näistä saatuja tuloksia

samakokoiseen kontrolliryhmään, joille ei annettu lainkaan kalsiumia. Vaikka suun kautta annettu kalsium nosti seerumin kalsiumpitoisuudet 24 tunnin ajaksi numeerisesti korkeammaksi kontrolliryhmään verrattuna, ryhmien välille ei saatu tilastollisesti merkitsevää eroa. Martinez ym. (2012) puolestaan havaitsivat, että seerumin kokonaiskalsiumpitoisuudet 0 – 10 vuorokautta poikimisesta olivat korkeammat lehmillä, joille poikimisen jälkeen oli annettu suun kautta kalsiumia, verrattuna kontrollilehmiin, jotka eivät olleet saaneet lainkaan kalsiumia.

Maailmalla yleisin tapa ehkäistä subkliinistä hypokalsemiaa on antaa umpilehmille rehua, jossa on alhainen kationi-anionitase (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Ravinnon alhainen kationi-anionitase aiheuttaa lehmän elimistössä lievän metabolisen asidoosin, joka parantaa kudosten vastetta parathormonille ja tällä tavoin tehostaa kalsiumhomeostaasia (katsauksessa Goff 2008, katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Kalsiumin aineenvaihdunta tehostuu sekä ennen että jälkeen poikimisen (Charbonneau ym. 2006). Keskeisintä subkliinisen hypokalsemian ehkäisemisessä on lisätä umpirehuun klooria sisältäviä suoloja (katsauksessa Goff 2008). Kloridi-ioni on negatiivisesti varautunut, jolloin sen lisäämisellä umpirehuun estetään tehokkaasti kaliumin aiheuttamaa veren alkaloitumista (katsauksessa Goff 2008). Charbonneau ym. (2006) mukaan kliinisen hypokalsemian esiintyvyys laski 16,4 prosentista 3,2 prosenttiin, kun rehun kationi-anionitase laskettiin +300 mEq/kg tasolle 0 mEq/kg.

Anioni-kationiruokinnan toteuttamisessa ongelmaksi voi muodostua syötettävän rehun huono maittavuus varsinkin, jos siihen on lisätty paljon anionisia suoloja (Charbonneau ym. 2006, katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Ongelma ei ole niin suuri apeluokinnassa, jossa rehun komponentit ovat tasaisesti sekoittuneena (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Toinen mahdollinen ongelma anioni-kationiruokinnassa on myös se, että sillä voidaan saada aikaan lehmälle metabolinen asidoosi, jossa elimistön kompensatio on heikentynyt (Charbonneau ym. 2006).

Subkliinistä hypokalsemiaa voidaan ehkäistä myös rajoittamalla kalsiumin saantia ravinnossa umpikaudella (katsauksessa Goff 2008, katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Kun ravinnosta saatava kalsium alittaa umpilehmän normaalin päivittäisen kalsiumintarpeen, lehmä joutuu negatiiviseen kalsiumtasapainoon (katsauksessa Goff 2008).

Kalsiumrajoituksen aiheuttama pieni veren kalsiumpitoisuuden lasku stimuloi parathormonin eritystä, mikä puolestaan aktivoi luussa osteoklastien toimintaa ja munuaisissa kalsitriolin tuotantoa (katsauksessa Goff 2008). Kun lehmä poikii, osteoklastit ovat jo aktiivisia ja maidontuotantoon menevä kalsium on helposti korvattavissa luustosta. Samalla myös kalsitriolin aktivoimat enterosyytit suolistossa ovat heti valmiina absorboimaan ravinnon kalsiumia (katsauksessa Goff 2008). Jotta kalsiumrajoitus toimii oikealla tavalla, tulee kalsiumköyhä rehu poikimisen jälkeen lopettaa ja antaa lehmälle runsaasti kalsiumia sisältävää rehua (katsauksessa Goff 2008). Parhaiten hypokalsemiaa ehkäistään, kun kalsiumin saanti rajoitetaan minimissään 20 grammaan päivässä (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014). Tätä on kuitenkin vaikea toteuttaa käytännössä, sillä umpilehmien ruokinnassa käytetyt karkearehut sisältävät liikaa kalsiumia suhteessa tarpeeseen (katsauksessa Martín-Tereso ja Martens 2014).

Koska hypomagnesemiaa pidetään yhtenä merkittävimmistä hypokalsemiaan altistavista tekijöistä, on myös subkliinisen hypokalsemian ehkäisyssä tärkeä turvata riittävä magnesiumin saanti umpikaudella ja poikimisen jälkeen (katsauksessa Goff 2008). Lean ym. (2006) havaitsivat, että magnesiumin lisääminen umpirehuun vähensi kliinisen hypokalsemian todennäköisyyttä. Katsauksessaan Goff (2008) esittää, että veressä riittävän magnesiumipitoisuuden ylläpitämiseksi magnesiumipitoisuus rehussa tulisi olla 3,5 – 4,0 g/ kg ka (0,35 – 0,4 %).

8 POHDINTA

Lypsylehmällä subkliinisen hypokalsemian todentamisen hankaluus piilee siinä, ettei sitä sananmukaisesti pysty kliinisesti havaitsemaan. Ainoa pätevä keino sen havaitsemiseen on ottaa lehmältä verinäyte, josta tutkitaan laboratoriomenetelmin kalsiumpitoisuus. Hypokalsemiaa käsittelevissä tutkimuksissa on yleensä mitattu joko seerumin kokonaiskalsiumpitoisuutta tai ionisoitua kalsiumpitoisuutta. Seerumin ionisoitu kalsiumpitoisuus on noin puolet kokonaiskalsiumpitoisuudesta (Larsen ym. 2001, kirjassa Sjaastad ym. 2003). Martinezin ym. (2016) tutkimuksessa ionisoituneen kalsiumin osuus seerumin kokonaiskalsiumpitoisuudesta vaihteli välillä 49,4 – 51,1 %. Tämän perusteella voidaan olettaa, että kumpikin arvo antaa yhtä hyvää tietoa lehmän kalsiumstatuksesta.

Subkliinisen hypokalsemian määritelmänä pidetään sitä, että kalsiumpitoisuus veressä laskee alle normaalitason mutta lehmällä ei havaita hypokalsemian aiheuttamia kliinisiä oireita (Jawor ym. 2012, Oetzel 2013, Caixeta ym. 2017). Ongelmana tässä määritelmässä on se, että eri tutkimuksissa käytetään erilaisia raja-arvoja, joiden perusteella lehmä luokitellaan subkliinisesti hypokalseemiseksi. Annetut raja-arvot vaihtelivat 1,8 mmol/l (7,2 mg/dl) (Jawor ym. 2012) ja 2,15 mmol/l (8,6 mg/dl) välillä (Caixeta ym. 2017). Tavallisin subkliinisen hypokalsemian raja-arvo oli 2,0 mmol/l (8,0 mg/dl) (Kamgarpour ym. 1999, Chamberlin ym. 2013, Martinez ym. 2014, Wilhelm ym. 2017). Koska tutkimuksissa käytetyt raja-arvot eivät ole yhteneviä, on hankalaa tehdä vertailuja niiden välillä ja mahdollista on, että jotkin syy-seuraussuhteet voivat jäädä huomaamatta se takia.

Hypokalsemian on todettu vaikuttavan negatiivisesti ruuansulatuskanavan toimintaan (Martinez ym. 2014), ja on viitteitä myös siitä, että subkliininen hypokalsemia alentaa kuiva-aineen syöntiä (Hansen ym. 2003, Martinez ym. 2014). On kuitenkin vielä epäselvää, aiheuttaako hypokalsemia yksinään kuiva-aineen syöntikyvyn alenemista vai onko niin, että alentunut syöntikyky aiheuttaa hypokalsemiaa, mikä edelleen pahentaa jo valmiiksi heikkoa syöntiä. Nykyään on tilallisille tarjolla monia erilaisia välineitä, joiden avulla voidaan havainnoida lehmän syöntiä ja märehkimistä. Niiden avulla saatavien yksilökohtaisten tietojen perusteella voidaan löytää hyvin pienetkin silmin havaitsemattomat muutokset syönnissä. Näin voitaisiin löytää subkliinisestä hypokalsemiasta kärsiviä lehmiä ja antaa niille kalsiumlisä.

Viime aikoina tutkimusten painopisteenä on ollut subkliinisen hypokalsemian ja eri sairauksien välisen yhteyden selvittäminen. Tutkimuksista saaduissa tuloksissa on melko paljon ristiriitaisuuksia eikä niistä pysty tekemään kovin pitkälle meneviä johtopäätöksiä. Yhtenä syynä näihin epäyhtenäisyyksiin saattaa olla se, että eri tutkimuksissa käytetään eri raja-arvoja veren kalsiumpitoisuudelle, minkä perusteella määritellään subkliinisesti hypokalseemiset eläimet. Lisäksi näissä tutkimuksissa usein on otettu vain yksi verinäyte, jolloin jää huomaamatta ne eläimet, joiden kalsiumpitoisuudet ovat laskemassa kohti hypokalsemiaa tai jotka vastaavasti palautumassa normokalseemiseksi. Suurimmat ristiriitaisuudet nähdään tutkimuksissa, joissa on tutkittu juoksutusmahan siirtymien ja subkliinisen hypokalsemian välistä yhteyttä. Rodríguez ym. (2017) mukaan subkliinisesti hypokalseemisilla lehmillä on jopa 3,7 kertaa suurempi todennäköisyys sairastua juoksutusmahan siirtymään, kun taas LeBlanc ym. (2005) eivät löytäneet yhteyttä subkliinisen hypokalsemian ja juoksutusmahan siirtymien välillä. Ristiriitaisia tuloksia on saatu myös siitä, kuinka suuri vaikutus subkliinisellä hypokalsemialla on riskiin sairastua metriittiin. Martinez ym. (2012) totesivat, että subkliinisesti hypokalseemiset lehmät ovat yli kolminkertaisessa riskissä sairastua metriittiin, kun taas Chamberlin ym. (2013) eivät havainneet yhteyttä metriitin ja subkliinisen hypokalsemian välillä. Mahdollinen selitys tutkimustulosten eroavaisuuksiin voi olla se myös se, että perusteissa, joilla lehmä määritellään sairaaksi tai terveeksi, on eroa tutkimusten välillä. Myös sillä saattaa olla vaikutusta, onko tutkimuksessa sairausdiagnoosin tehnyt yksi vai useampi henkilö ja onko tämä henkilö eläinlääkäri vai ei.

Ainoa sairaus, josta löytyy jokseenkin yhteneviä tutkimustuloksia, on mastiitti. Tähän mennessä tehdyistä tutkimuksista ei missään havaittu yhteyttä subkliinisen hypokalsemian ja mastiitin esiintyvyyden välillä (Chamberlin ym. 2013, Wilhelm ym. 2017, Rodríguez ym. 2017). Huomioitavaa on kuitenkin se, että näissä tutkimuksissa oli mukana myös monia muita sairauksia, joita painotettiin enemmän, jolloin mastiitin osuus saattoi jäädä vähemmälle huomiolle. Olisi mielenkiintoista tietää, saadaanko erilaisia tuloksia, jos tutkittaisiin pelkästään subkliinisen hypokalsemian ja mastiitin välistä yhteyttä.

Koska subkliinistä hypokalsemiaa esiintyy lehmällä yleensä poikimisen aikaan, jolloin sen elimistössä muutenkin tapahtuu suuria muutoksia, niin on vaikeaa osoittaa yksiselitteisesti subkliinisen hypokalsemian suoraa yhteyttä sairauksien syntyyn. Todennäköisesti subkliininen hypokalsemia on yksi osatekijä, joka yhdessä muiden riskitekijöiden kanssa voi saada aikaan lehmän sairastumisen.

Mielenkiintoista on se, että subkliinisesti hypokalseemiset lehmät tuottivat normokalseemisia lehmiä enemmän maitoa (Jawor ym. 2012, Gild ym. 2015). Hyvin todennäköistä on se, että näillä lehmillä on perimässään korkea tuotospotentiaali (Gild ym. 2015). Koska suuri maitotuotos asettaa haasteita lehmän kalsiumaineenvaihdunnalle, herää ajatus, voisiko jalostuksessa ottaa huomioon lisäksi myös kalsiumaineenvaihdunnan parantamisen.

Maailmalla tehdyissä tutkimuksissa subkliinisen hypokalsemian esiintyvyydeksi poikimisen jälkeen on saatu noin 50 % kaksi tai useamman kerran poikineilla lehmillä (Reinhardt ym. 2011). Suomessa subkliinisen hypokalsemian esiintyvyyttä lehmillä ei ole vielä tutkittu. Olisi hyvä selvittää Suomen tilanne subkliinisen hypokalsemian esiintyvyydessä, jotta saataisiin tietoa siitä, kuinka laajasti asia koskettaa suomalaisia lehmiä.

Se kuinka suuri merkitys subkliinisellä hypokalsemialla on koko karjan tasolla jää vielä avoimeksi. Sellaisissa karjoissa, joissa kliinisten hypokalsemioiden esiintyvyys on hyvin alhainen ja joissa on ongelmia jossain tässä tutkielmassa käsitellyssä osa-alueessa, ongelmanselvitystyössä voisi olla hyvä ottaa huomioon myös subkliinisen hypokalsemian mahdollisuus. Muutoin karjan terveydenhuollossa kannattaa ensisijaisesti keskittyä kliinisten hypokalsemioiden ehkäisyyn.

Subkliinistä hypokalsemiaa käsittelevissä tutkimuksissa on keskitytty tutkimaan hypokalsemiaa vastapoikineilla lehmillä. Mielenkiintoista olisi saada myös tietoa, voiko lehmä myös myöhemmässä vaiheessa lypsykautta olla subkliinisesti hypokalseeminen ja onko tällä vaikutuksia eläinten terveyteen. Tämä vaatisi pitkäaikaista seurantaa, mikä vaatii paljon resursseja, ja tällaiseen tutkimukseen rahoituksen saaminen voi olla vaikeaa.

9 KIRJALLISUUSLUETTELO

Al-Eknaah MM, Noakes DE. A preliminary study on the effect of induced hypocalcaemia and nifedipine on uterine activity in the parturient cow. *J Vet Pharmacol Ther* 1989, 12: 237-239.

Bertics SJ, Grummer RR, Cadorniga-Valino C, Stoddard EE. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J Dairy Sci* 1992, 75: 1914-1922.

Blanc CD, Van der List M, Aly SS, Rossow HA, Silva-del-Río N. Blood calcium dynamics after prophylactic treatment of subclinical hypocalcemia with oral or intravenous calcium. *J Dairy Sci* 2014, 97: 6901-6906.

Brechard S, Tschirhart EJ. Regulation of superoxide production in neutrophils: role of calcium influx. *J Leukocyte Biol* 2008, 84: 1223-1237.

Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB, Nydam DV. The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. *Vet J* 2015, 204: 150-156.

Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB, Nydam DV. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2017, 94: 1-7.

Chamberlin WG, Middleton JR, Spain JN, Johnson GC, Ellersieck MR, Pithua P. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 2013, 96: 7001-7013.

Chapinal N, Carson M, Duffield TF, Capel M, Godden S, Overton M, Santos JEP, LeBlanc SJ. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J Dairy Sci* 2011, 94: 4897-4903.

Charbonneau E, Pellerin D, Oetzel GR. Impact of lowering dietary cation-anion difference in nonlactating dairy cows: a meta-analysis. *J Dairy Sci* 2006, 89: 537-548.

Daniel RC. Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia. *Can J Comparat Med* 1983, 47: 276-280.

DeGaris PJ, Lean IJ. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Vet J* 2008, 176: 58-69.

Ducusin RJT, Uzuka Y, Satoh E, Otani M, Nishimura M, Tanabe S, Sarashina T. Effects of extracellular Ca^{2+} on phagocytosis and intracellular Ca^{2+} concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. *Res Vet Sci* 2003, 75: 27-32.

Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Textbook of veterinary anatomy. 3. p. Saunders, Philadelphia 2002.

Gild C, Alpert N, van Straten M. The Influence of subclinical hypocalcemia on production and reproduction parameters in Israeli dairy herds. *Isr J Vet Med* 2015, 70: 16-21.

Goff JP. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2000, 16: 319-337.

Goff JP. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim Feed Sci Tech* 2006, 126: 237-257.

Goff JP. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Vet J* 2008, 176: 50-57.

Goff JP. Calcium and magnesium disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2014, 30: 359-381.

Goff JP. Calcium, magnesium and phosphorus. Teoksessa: Smith, BP (toim.) Large animal internal medicine. 5. p. Mosby/Elsevier, St. Louis, Mo. 2015: 1258-1269.

Goff JP, Horst RL. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci* 1997, 80: 176-186.

Goff JP, Kimura K, Horst RL. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and β -carotene status at parturition. *J Dairy Sci* 2002, 85: 1427-36.

Hansen S, Norgaard P, Pedersen C, Jorgensen R, Mellau L, Enemark J. The effect of subclinical hypocalcaemia induced by Na₂EDTA on the feed intake and chewing activity of dairy cows. *Vet Res Commun* 2003, 27: 193-205.

Heppelmann M, Krach K, Krueger L, Benz P, Herzog K, Pliechotta M, Hoedemaker M, Bollwein H. The effect of metritis and subclinical hypocalcemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry. *J Reprod Develop* 2015, 61: 565-569.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *J Dairy Sci* 1994, 77: 1936-51.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Adapting to the transition between gestation and lactation: differences between rat, human and dairy cow. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2005, 10: 141-156.

Jawor PE, Huzzey JM, LeBlanc SJ, von Keyserlingk MAG. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. *J Dairy Sci* 2012, 95: 1240-1248.

Jonsson NN, Daniel RCW. Effects of hypocalcaemia on blood flow to the ovaries of the sheep. *J Vet Med A* 1997, 44: 281-7.

Kamgarpour R, Daniel RCW, Fenwick DC, McGuigan K, Murphy G. Post partum sub-clinical hypocalcaemia and effects on ovarian function and uterine involution in a dairy herd. *Vet J* 1999, 158: 59-67.

Kimura K, Reinhardt TA, Goff JP. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006, 89: 2588-2595.

Larsen T, Møller G, Bellio R. Evaluation of clinical and clinical chemical parameters in periparturient cows. *J Dairy Sci* 2001, 84: 1749-58.

Lean IJ, DeGaris PJ, McNeil DM, Block E. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J Dairy Sci* 2006, 89: 669-684.

LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2005, 88: 159-170.

Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão K, Santos JEP. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J Dairy Sci* 2012, 95: 7158-7172.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Gomes GC, Lima FS, Greco LF, Risco CA, Galvão KN, Taylor-Rodriguez D, Driver JP, Thatcher WW, Santos JEP. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. *J Dairy Sci* 2014, 97: 874-887.

Martinez N, Sinedino LDP, Bisinotto RS, Daetz R, Lopera C, Risco CA, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP. Effects of oral calcium supplementation on mineral and acid-base status, energy metabolites, and health of postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 2016, 99: 8397-8416.

Martín-Tereso J, Martens H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2014, 30: 643-670.

Massey CD, Wang C, Donovan GA, Beede DK. Hypocalcemia at parturition as a risk factor for left displacement of the abomasum in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 1993, 203: 852-853.

Miltenburg CL, Duffield TF, Bienzle D, Scholtz EL, LeBlanc SJ. Randomized clinical trial of a calcium supplement for improvement of health in dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 2016, 99: 6550-6562.

Neves RC, Leno BM, Stokol T, Overton TR, McArt JAA. Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *J Dairy Sci* 2017a, 100: 3796-3804.

Neves RC, Leno BM, Curler MD, Thomas MJ, Overton TR, McArt JAA. Association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. *J Dairy Sci* 2017b,

Oetzel GR, Miller BE. Effect of oral calcium bolus supplementation on early-lactation health and milk yield in commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 2012, 95: 7051-65.

Oetzel GR. Oral calcium supplementation in peripartum dairy cows. *J Dairy Sci* 2013, 29: 447-455.

Ramberg Jr. CF, Johnson EK, Fargo RD, Kronfeld DS. Calcium homeostasis in cows, with special reference to parturient hypocalcemia. *Am J Physiol* 1984, 246: R698-704.

Reinhardt TA, Lippolis JD, McCluskey BJ, Goff JP, Horst RL. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *Vet J* 2011, 188: 122-124.

Ribeiro ES, Lima FS, Greco LF, Bisinotto RS, Monteiro APA, Favoreto M, Ayres H, Marsola RS, Martinez N, Thatcher WW, Santos JEP. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J Dairy Sci* 2013, 96: 5682-5697.

Rodríguez EM, Arís A, Bach A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *J Dairy Sci* 2017, 100: 7427-34.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006, 65: 1516-1530.

Sjaastad ØV, Hove K, Sand O. Physiology of domestic animals. Scandinavian Veterinary Press, Oslo 2003.

Wilhelm AL, Maquivar MG, Bas S, Brick TA, Weiss WP, Bothe H, Velez JS, Schuenemann GM. Effect of serum calcium status at calving on survival, health, and performance of postpartum Holstein cows and calves under certified organic management. *J Dairy Sci* 2017, 100: 3059-67.